

Aus dem Institut für Klinische Strahlenkunde
der Johannes Gutenberg-Universität

(Direktor Prof. Dr. L. Diethelm)

**Die Anreicherung von ^{99m}Tc -Eisen II-
Ascorbinsäure-Komplex im Myelosarkom T 58
der Ratte bei unterschiedlicher Applikationsart**

Inauguraldissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität

vorgelegt von
Martin Hill
aus Darmstadt

Mainz 1972

Aus dem Institut für Klinische Strahlenkunde der Johannes
Gutenberg-Universität (Direktor Prof. Dr. L. Diethelm)

DIE ANREICHERUNG VON ^{99m}Tc -TECHNETIUM-EISENII-ASKORBINSÄURE-
KOMPLEX IM MYELOSARKOM-T 58 DER RATTE BEI UNTERSCHIEDLICHER
APPLIKATIONSART.

Inauguraldissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der Hohen Medizinischen Fakultät
der Johannes Gutenberg-Universität Mainz

vorgelegt von

Martin H i l l

aus Darmstadt

Mainz, 1972



Dekan: Professor Dr. Dr. W. Ketterl

Referent: Professor Dr. L.V. Habighorst

Korreferent: Professor Dr. L. Diethelm

ÜBERSICHT

I. EINLEITUNG	
	Seite
a) szintigraphische Verfahren	1
b) frühere Ergebnisse mit ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbin- säure-Komplex	2
c) Fragestellung	3
II. MATERIAL und METHODE	3
III. ERGEBNISSE	7
a) statistische Bearbeitung	8
b) graphische Darstellung	14
IV. DISKUSSION	23
V. ZUSAMMENFASSUNG	28
VI. LITERATUR	29

I. EINLEITUNG

Die szintigraphische Lokalisationsdiagnostik von Tumoren bedient sich entgegengesetzter Verfahren: einer negativen und einer positiven Tumordarstellung.

Bei der negativen Darstellung zeigt sich der Tumor als Speicherdefekt, einem sogenannten kalten Bezirk, in einem die Aktivität speichernden Organ. Spezifische Organfunktionen, z. B. von Schilddrüse, Leber, Milz und Pankreas, werden hier zur Organdarstellung eingesetzt. Alle pathologischen Prozesse, die in umschriebenem Bereich die funktionierende, normale Organstruktur ersetzen, führen zu Ausparungen im Szintigramm. Nicht nur maligne Tumoren, auch benigne Geschwülste, Zysten, entzündliche Veränderungen, Parasiten und örtliche Zirkulationsstörungen können zu gleichartigen, daher unspezifischen Abbildungen führen.

Grundlage der positiven Tumordarstellung sind Tracersubstanzen, die sich elektiv im Tumor anreichern, oder zumindest eine deutlich höhere Konzentration im Tumor gegenüber der Umgebung erreichen. Bestes Beispiel sind Jod speichernde Schilddrüsenmalignome und deren Metastasen, die wie normales Schilddrüsengewebe als spezifische Stoffwechselleistung die Fähigkeit haben, Radiojod zu speichern.

In den letzten Jahren wurden zahlreiche Tracersubstanzen angegeben, die sich in malignen Tumoren anreichern und zu

deren szintigraphischer Darstellung geeignet sind (5,6,9). Die klinische Bedeutung lag besonders in der Hirnszintigraphie, aber auch extrazerebrale Tumoren konnten mit verschiedenen Tracern dargestellt werden (1,19,25). Stapleton, Odell und McKamey (23) berichteten 1967 erstmals über gute Ergebnisse in der Hirntumorszintigraphie mit einem ^{99m}Tc -Technetium-Eisen-Ascorbinsäure-Komplex. Diese Befunde wurden 1968 von Habighorst, Wolf, Schmidt, Brod und Buchwald (9) aufgegriffen, die sowohl tierexperimentell wie klinisch auch extrazerebrale Tumoren mit einem ^{99m}Tc -Technetium-EisenII-Ascorbinsäure-Komplex, der routinemäßig zur Nierenszintigraphie verwandt wurde (21), darstellen konnten. In der Folgezeit erschienen aus dem gleichen Arbeitskreis mehrere Mitteilungen über die Darstellung zerebraler (8,22) und extrazerebraler Tumoren (2,12) sowie von Skeletterkrankungen (3,11,13,20) mit ^{99m}Tc -Technetium-EisenII-Ascorbinsäure-Komplex. Diese Substanz erbrachte häufig infolge ihrer günstigen radiopharmakologischen und physikalischen Eigenschaften gute Tumorabbildungen, erwies sich jedoch nicht als tumorspezifisch (12). Der Mechanismus der Anreicherung von ^{99m}Tc -Technetium-EisenII-Ascorbinsäure-Komplex im Tumor blieb ungeklärt, beruht aber wahrscheinlich auf peri- und intratumoralen Permeabilitätsstörungen, d. h. Veränderungen der Blut-Gewebsschranke.

Zur weiteren Abklärung der Anreicherungsmechanismen wurden im Tierexperiment folgende Fragen untersucht:

1. Bestehen Unterschiede in der Anreicherung von ^{99m}Tc -Technetium-EisenII-Ascorbinsäure-Komplex zwischen Tumorschale und Tumorkern.
2. Unterscheidet sich die Anreicherung im Tumor bei intraarterieller, intramuskulärer und oraler Applikation des Tracers von der Anreicherung bei der bisher angewandten intravenösen Applikation.

II. MATERIAL und METHODE

Die Untersuchungen wurden durchgeführt an erwachsenen, ca. 180 g schweren Wistar-Ratten aus dem Zentralinstitut für Versuchstierzucht in Hannover. Je 10 bis 15 Tiere wurden in einem Käfig gehalten. Die Fütterung erfolgte mit Sniff-Rattenfutter der Intermast GmbH und Leitungswasser ad libitum. Das Geschlecht der Tiere wurde nicht berücksichtigt.

Als Tumor verwendeten wir das transplantable Myelosarkom T 58 von Oberling und Guérin (7,10,17). Den Tieren wurde eine Tumorzellsuspension von etwa 0,5 ml intramuskulär in die rechte hintere Extremität implantiert. 14 bis 17 Tage nach Transplantation hatten die Tumoren Durchmesser von 1,5 bis 4 cm und somit für die Untersuchungen geeignete Größen.

Als Tracer diente der routinemäßig zur Nierenszintigraphie verwendete ^{99m}Tc -Technetium-EisenII-Ascorbinsäure-Komplex. Die Herstellung dieser Substanz ist von Schmidt und Mitarbeitern (21) sowie Habighorst und Mitarbeitern (11) angegeben. Die Tiere wurden durch intraperitoneale Gabe von 7 - 12 mg Trapanal narkotisiert. Bei allen Tieren erfolgte eine Eröffnung der Bauchhöhle durch ventralen Längsschnitt. Die vier Applikationsformen des Tracers wurden wie folgt durchgeführt.

1. Intragastrale Applikation

Als Modell der peroralen Applikation diente die direkte Injektion des Tracers in das Magenlumen. Da die Tiere ihre Nahrung ad libitum aufnehmen konnten, war die Füllung des Magens unterschiedlich; es fehlten aber die Extreme, leerer und stark gefüllter Magen, da zwischen letztmöglichster Nahrungsaufnahme und Versuchsbeginn immer 1 - 2 Stunden verstrichen waren. Anschließend Verschluss des Bauchschnittes durch Naht.

2. Intravenöse Applikation

Nach Abschieben der Dünndarmschlingen Injektion des Tracers in die freiliegende Vena cava inferior. Regelmäßig trat eine geringe Blutung auf. Nahtverschluss des Bauchschnittes.

3. Intraarterielle Applikation

Abschieben der Dünndarmschlingen nach rechts, Injektion in die freiliegende Aorta abdominalis caudal des Abganges der Nierenarterien, cranial der Aortenbifurkation. Die Injektionsnadel wurde in der Aorta belassen und fixiert, um ein Verbluten aus der Punktionsstelle zu verhindern. Bei einigen Tieren bildete sich ein retroperitoneales Hämatom.

4. Intramuskuläre Applikation

Auch bei diesen Tieren wurde, um gleiche Versuchsbedingungen zu schaffen, eine Laparotomie in Narkose durchgeführt. Die intramuskuläre Injektion des Tracers erfolgte in die Muskulatur der linken vorderen Extremität.

Die applizierte Substanzmenge betrug 0,05 bis 0,2 ml, entsprechend einer Aktivität von 100 bis 300 μ Ci. In jeder der vier Versuchsgruppen wurden insgesamt 42 Tiere untersucht. In Gruppen von je 7 Tieren wurden sie nach 3, 5, 10, 20, 60 und 360 Minuten nach Applikation des Tracers abgetötet. Um vergleichbare Versuchsbedingungen zu schaffen, wurden an jedem Tag Tiere verschiedener Gruppen getötet. Präfinal wurde der Thorax eröffnet, und zum Ausbluten das Herz abgetrennt. Die Thoraxhöhle füllte sich hierbei mit Blut, von dem 2 ml zur Impulsratenmessung entnommen wurden. Teile der Leber, die linke Niere und

Muskulatur der linken hinteren Extremität wurden entnommen. Der Tumor der rechten hinteren Extremität wurde freipräpariert, und eine Trennung von Tumorschale und nekrotischem Tumorkern vorgenommen. Diese Trennung gestaltete sich teils schwierig, da nicht alle Tumoren in gleicher Weise zentral nekrotisiert waren, andere sterile Eiterungen hatten, andere ausgedehnte Blutungen in den Nekrosen zeigten.

Die Gewebeprobeen wurden mit einer Genauigkeit von $1/20$ g gewogen. Das Gewicht der Gewebeprobeen lag zwischen 0,5 und 2,5 g.

Die Aktivitätsmessung erfolgte im Bohrlochzähler Baird-Atomic. Sie wurde im Bereich der größten Messgenauigkeit, d. h. bei Impulsraten zwischen 1000 und 500 000 Imp./min. durchgeführt. Die Gewebeprobeen eines Tieres wurden unmittelbar hintereinander gemessen, um Ungenauigkeiten durch die relativ kurze physikalische Halbwertszeit des ^{99m}Tc (6 Stunden) zu vermeiden.

II. ERGEBNISSE

Um aus den bei den verschiedenen Tieren gewonnenen Impulszahlen vergleichbare Werte zu erhalten, wurden folgende Rechenschritte durchgeführt:

1. Umrechnung der absolut in den Gewebeproben gemessenen Impulszahlen pro 1 g Gewebe. Bei diesem Schritt wurde auch der Null-Effekt subtrahiert, sofern die Impulszahl weniger als das zwanzigfache des Null-Effektes betrug.
2. Die Impulszahl des Blutes wurde gleich 100 und die Impulszahlen der zugehörigen Gewebeproben dazu in Vergleich gesetzt.

Die Streuung der Werte war größer als erwartet. Die Ursache liegt wahrscheinlich an den Kreislaufverhältnissen der nar-kotisierten, laparotomierten Tiere. Selbst bei Tieren, an denen innerhalb einer Stunde der gleiche Versuch durchgeführt wurde, wichen die Werte voneinander ab. Da aber zu einer annähernden Randomisierung an jedem Versuchstag Tiere aus mehreren Versuchsgruppen herangezogen wurden, ergaben sich noch größere Streuungen. Durch die breite Streuung der Werte ließ sich, da für jeden Einzelversuch nur sieben Tiere eingeplant waren, die anvisierte Varianzanalyse nicht durchführen. Als Ausweg bot sich die Rangvarianzanalyse nach Friedman an, die an Aussagekraft einer Varianzanalyse nur wenig nachsteht (16,18

Geprüft wurden folgende Fragen:

1. Ergeben sich zwischen den einzelnen Zeitpunkten statistisch signifikante oder auffällige Unterschiede? Kann man also eindeutig eine Anreicherung nachweisen?

2. Ergeben sich zwischen den einzelnen Applikationsarten zum gleichen Zeitpunkt signifikante oder auffällige Unterschiede in den Gewebeproben?

Friedman-Test (18)

Für den verteilungsunabhängigen Vergleich mehrerer abhängiger Meßwerte hinsichtlich ihrer zentralen Tendenz steht die von Friedman entwickelte Rangvarianzanalyse, eine Varianzanalyse mit Rangzahlen zur Verfügung. Untersucht werden n-Versuchstiere unter k-Bedingungen (verschiedene Meßzeitpunkte und verschiedene Applikationsarten). Unter der Hypothese, daß die verschiedenen Bedingungen keinen Einfluß auf die Verteilung der betroffenen Meßwerte nehmen, werden sich die Rangplätze der n-Versuchstiere nach Zufall auf die k-Bedingungen (verschiedene Zeitpunkte der Messung und verschiedene Applikationsarten) verteilen. Bildet man unter Annahme der Null-Hypothese (es bestehen keine Unterschiede zwischen den Bedingungen) die Rangsumme für jede der k-Bedingungen, so werden diese nicht oder nur zufällig voneinander abweichen. Üben einzelne Bedingungen jedoch einen systematischen Einfluß aus, so werden die k-Spalten unterschiedliche Rangsummen aufweisen.

Zur Prüfung der Alternativ-Hypothese (es besteht ein Unterschied) hat Friedman eine Prüfgröße $\hat{\chi}_R^2$ angegeben.

$$\hat{\chi}_R^2 = \left[\frac{12}{n \cdot k(k+1)} \sum_{i=1}^k R_i^2 \right] - 3n(k+1)$$

Exakte Überschreitungswahrscheinlichkeiten von $\hat{\chi}_R^2$ in Abhängigkeit von n und k lassen sich aus einer Tabelle entnehmen.

1. Die Beobachtungswerte werden in eine 2-Weg-Tafel eingetragen.

Horizontal: k-Zeitpunkte oder Applikationsarten

Vertikal: n-Versuchstiere

2. Die Werte jeder Zeile werden in eine Rangordnung gebracht. Jede Zeile weist also die Rangzahlen 1 bis k auf.

3. Für jede Spalte wird die Rangsumme R_j ermittelt.

4. $\hat{\chi}_R^2$ wird nach der Formel berechnet.

5. Beurteilung von $\hat{\chi}_R^2$ anhand der Tabelle.

Beispiele:

1. Anreicherungskinetik

2. Applikationsunterschiede

Beispiel 1

Anreicherungskinetik in der Niere bei intravenöser Applikation. Die angegebenen Werte sind Prozente der Blutaktivität.

K	3'	5'	10'	20'	60'	360'
n 1	153	62,5	91	263	748	622
2	154	229	370	255	569	1810
3	178,5	194	296	392	1655	2570
4	67,5	204,5	365	541	1180	1240
5	224	172,5	362	552	2195	3190
6	171	166,5	223,5	372	1010	3460
7	216	209,5	305	562	842	1770

K	3'	5'	10'	20'	60'	360'
n 1	3	2	1	4	6	5
2	1	2	4	3	5	6
3	1	2	3	4	5	6
4	1	2	3	4	5	6
5	2	1	3	4	5	6
6	2	1	3	4	5	6
7	2	1	3	4	5	6
	12	11	20	27	36	41 Rangsummen

$$\hat{X}_R^2 = 31,408$$

Kritische Schranke für das 5 % Niveau = 10,8

für das 1 % Niveau = 14,8

d. h. erst wenn $\hat{\chi}_R^2$ diese Werte überschreitet, ist die Wahrscheinlichkeit von Unterschieden gegeben.

Beispiel 2

Unterschiedliche Anreicherung in der Tumorschale 60 min.
nach der Applikation i.a., i.m., i.v.

K	A	B	C		A	B	C
n 1	37,1	42,1	27,2		2	3	1
2	38,5	75,6	23,0		2	3	1
3	41,4	105	27,7		2	3	1
4	66,7	50,1	30,8		3	2	1
5	83,0	96,9	29,6		2	3	1
6	70,4	60,0	38,3		3	2	1
7	43,0	58,3	32,4		2	3	1
					16	19	7 Rangsummen

$$\hat{\chi}_R^2 = 11,14$$

A = i.m.

Kritische Schranke für das

B = i.a.

5 % Niveau = 6,5

C = i.v.

1 % Niveau = 8,8

Mit dem Friedmantest konnte festgestellt werden, daß in der Gesamtheit von k (Zeitpunkte oder Applikationsarten) signi-

fikante Unterschiede bestehen. Um Signifikanzen zwischen einzelnen Zeitpunkten oder Applikationsarten festzustellen, dient das Verfahren von Wilcoxon und Wilcox (18). In einer 2-Weg-Tafel werden die Rangsummen eingetragen und ihre Differenzen gebildet. Die Differenzen vergleicht man mit dem Wert der kritischen Differenz aus der zugehörigen Tabelle. Wird die tabellierte kritische Differenz erreicht oder überschritten, dann bestehen Unterschiede zwischen den dem Vergleich zugrunde liegenden Zeitpunkten oder Applikationsarten. Bleiben die berechneten Differenzen unter der kritischen Differenz, so sind die Unterschiede nur zufällig.

Wilcoxon und Wilcox zu Beispiel 1

		1 12	3 20	4 27	5 36	6 41
2	11	1	9	16	25++	30++
1	12		8	15	24++	29++
3	20			7	16	21+
4	27				9	14
5	36					5

Die kritischen Differenzen für $n = 7$ und

$k = 6$ betragen auf dem

5 % Niveau 19,9 (+)

1 % Niveau 23,5 (++)

Zwischen dem zweiten und dem fünften und sechsten Zeitpunkt kam es somit zu einer signifikanten Anreicherung. Das gleiche

gilt für die Anreicherung zwischen dem ersten und dem fünften und sechsten Zeitpunkt. Zwischen dem dritten und dem sechsten Zeitpunkt kam es zu einer auffälligen Anreicherung.

Zu Beispiel 2

	A	B
C 7	16 9+	18 17++
A 10		3

Die kritischen Differenzen für

$n = 7$ und $k = 3$ betragen auf dem

5 % Niveau 8,8 (+)

1 % Niveau 10,9 (++)

Zwischen Applikationsart C (i.v.) und Applikationsart A (i.m.) besteht ein auffälliger Unterschied; zwischen C (i.v.) und B (i.a.) besteht ein signifikanter Unterschied.

Die graphische Darstellung (Abb. 1-6) gibt einen besseren Überblick über die Aktivitätsanreicherung in den einzelnen Organen. Die Kurvenwerte sind das arithmetische Mittel aus den sieben Meßwerten. Die Streuung wurde aus Gründen der Übersichtlichkeit nicht mit abgebildet. Die Einflüsse der Streubreite auf die Aussagekraft der Werte wurde in der statistischen Bearbeitung berücksichtigt. Anhand der Tabelle I ist ersichtlich, inwieweit den graphischen Unterschieden in der Anreicherung auch statistisch signifikante Unterschiede entsprechen.

Nach intragastraler Applikation lagen die Impulsraten während der ersten Stunde so niedrig, daß infolge der Streuniveau-Schwankung in diesem Meßbereich eine große Meßungenauigkeit auftrat. Die Werte der ersten Stunde lagen in nicht auswertbarem Bereich, waren aber nach sechs Stunden angestiegen. Aus der graphischen Darstellung der Anreicherung bei den verschiedenen Applikationen ergaben sich deutliche Unterschiede, die sich statistisch aber nur in wenigen Fällen sichern ließen (Tabelle II).

Wie aus den Kurven ersichtlich läuft der Anstieg der Aktivität in Tumorschale und Tumorkern parallel, wobei die Anreicherung im Tumorkern nur geringfügig niedriger liegt. Ein auch nur statistisch auffälliger Unterschied zwischen Tumorschale und Tumorkern war zu keinem Zeitpunkt nachzuweisen.

Einfache Datenbeschreibung

L= Leber, N= Niere, M= Muskel, TS= Tumorschale, TK= Tumorkern

Einordnung Mittelwert Stand.Abweichung Min.Wert Max. Wert

i.a. 1. Zp.

L	41,80	28,97	17,70	85,50
N	169,14	45,55	87,50	224,00
M	12,66	5,93	5,80	24,70
TS	52,46	38,74	13,54	91,38
TK	53,47	49,95	10,10	162,00

i.a. 2. Zp.

L	59,59	42,76	18,35	113,50
N	179,78	47,97	82,50	229,00
M	14,66	5,71	6,80	25,50
TS	20,78	16,26	3,53	51,70
TK	17,79	17,12	2,29	45,00

i.a. 3. Zp.

L	37,05	16,07	26,50	72,00
N	286,07	104,45	81,00	370,00
M	15,06	5,21	7,40	23,20
TS	32,44	14,19	6,23	46,00
TK	18,69	15,60	1,77	50,20

i.a. 4. Zp.

L	46,42	29,46	26,40	110,80
N	419,57	133,65	255,00	562,00
M	16,53	4,55	12,65	24,30
TS	50,42	23,11	21,10	83,50
TK	43,96	23,48	7,57	69,20

Einordnung	Mittelwert	Stand. Abweichung	Min. Wert	Max. Wert
------------	------------	-------------------	-----------	-----------

i.a. 5. Zp.

L	67,92	16,42	49,10	89,20
N	1172,71	571,35	569,00	2195,00
M	17,87	3,89	14,45	25,10
TS	69,71	23,77	42,10	105,00
TK	53,79	22,50	29,65	99,40

i.a. 6. Zp.

L	151,78	155,01	59,50	495,00
N	2094,57	1030,81	622,00	3460,00
M	24,87	15,08	14,60	57,90
TS	95,49	42,09	19,65	147,00
TK	78,38	41,73	24,40	161,00

i.v. 1. Zp.

L	37,90	14,85	18,20	61,80
N	281,92	156,18	106,50	540,00
M	10,24	2,67	6,90	13,50
TS	12,54	7,79	7,30	25,80
TK	10,64	7,04	1,77	20,80

i.v. 2. Zp.

L	32,51	16,92	17,90	63,00
N	261,41	88,40	178,20	392,00
M	12,73	4,16	8,81	20,95
TS	15,89	8,82	8,18	32,80
TK	13,44	9,61	3,41	29,40

i.v. 3. Zp.

L	49,98	24,13	31,00	99,00
N	400,01	342,33	71,60	1138,00
M	11,62	4,15	5,52	16,00
TS	18,60	10,36	5,64	34,90
TK	12,57	4,48	4,70	18,20

Einordnung	Mittelwert	Stand.Abweichung	Min.Wert	Max.Wert
------------	------------	------------------	----------	----------

i.v. 4. Zp.

L	89,14	47,48	34,00	130,50
N	486,64	243,84	262,00	878,00
M	12,73	6,13	6,33	19,25
TS	19,38	11,30	9,60	38,40
TK	21,09	13,34	8,35	41,50

i.v. 5. Zp.

L	96,60	54,37	39,50	164,00
N	1015,71	178,72	720,00	1220,00
M	13,78	4,48	10,75	22,30
TS	29,85	4,78	23,00	38,30
TK	25,32	10,84	15,70	45,70

i.v. 6. Zp.

L	135,88	26,32	98,00	166,00
N	3198,57	1145,00	2190,00	5000,00
M	39,51	54,97	9,67	159,00
TS	74,75	36,04	36,80	149,00
TK	93,00	43,87	44,00	176,00

i.m. 1. Zp.

L	22,80	8,04	8,05	35,20
N	110,37	74,99	4,82	212,00
M	5,54	2,67	1,67	8,90
TS	6,30	3,10	0,68	19,05
TK	6,60	2,12	1,23	7,30

i.m. 2. Zp.

L	40,55	24,21	11,60	70,00
N	166,60	15,01	149,00	186,50
M	7,61	2,03	4,75	10,20
TS	11,72	4,14	6,00	17,00
TK	7,00	3,17	3,65	12,20

Einordnung	Mittelwert	Stand.Abweichung	Min.Wert	Max.Wert
------------	------------	------------------	----------	----------

i m. 3. Zp.

L	42,87	26,66	15,40	79,40
N	201,07	51,03	123,50	269,00
M	9,28	1,78	6,35	11,70
TS	21,10	10,76	10,80	43,40
TK	14,22	2,54	11,15	17,25

i.m. 4. Zp.

L	34,84	6,67	28,90	48,50
N	589,28	249,72	286,00	1008,00
M	16,87	11,99	7,78	43,50
TS	38,30	13,58	26,70	59,00
TK	33,65	14,85	22,00	56,40

i.m. 5. Zp.

L	51,75	9,72	43,30	65,40
N	917,28	437,20	504,00	1580,00
M	13,21	1,47	11,45	15,05
TS	54,35	18,55	37,10	83,00
TK	51,40	11,64	40,80	74,80

i.m. 6. Zp.

L	94,11	17,82	72,00	127,50
N	3398,57	894,09	2450,00	4870,00
M	15,81	3,81	10,95	21,10
TS	50,22	9,17	43,50	70,00
TK	75,40	23,50	41,00	100,40

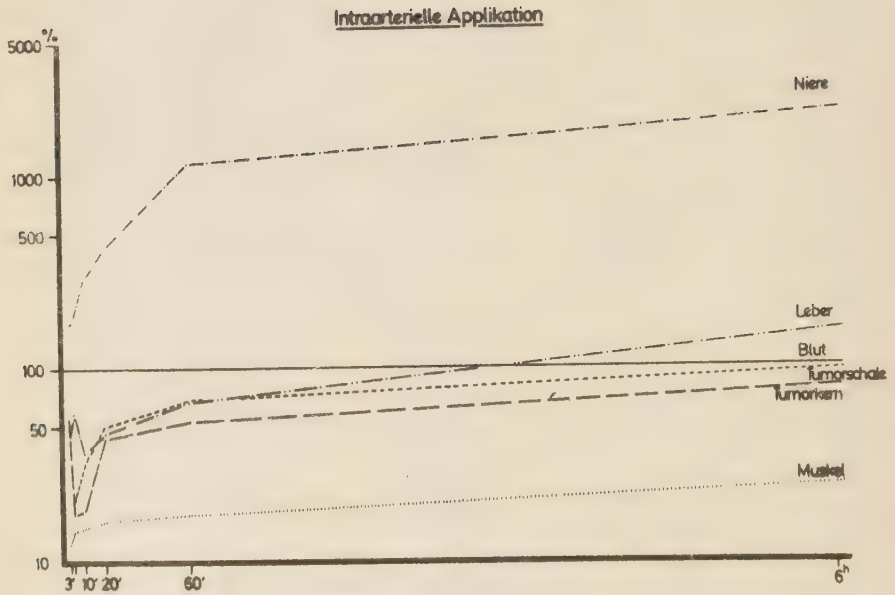


Abb. 1. Anreicherungskinetik bei intraarterieller Applikation, halblogarithmische Darstellung. Unmittelbar nach Injektion kurzfristiger Anstieg der Aktivität im Tumor.

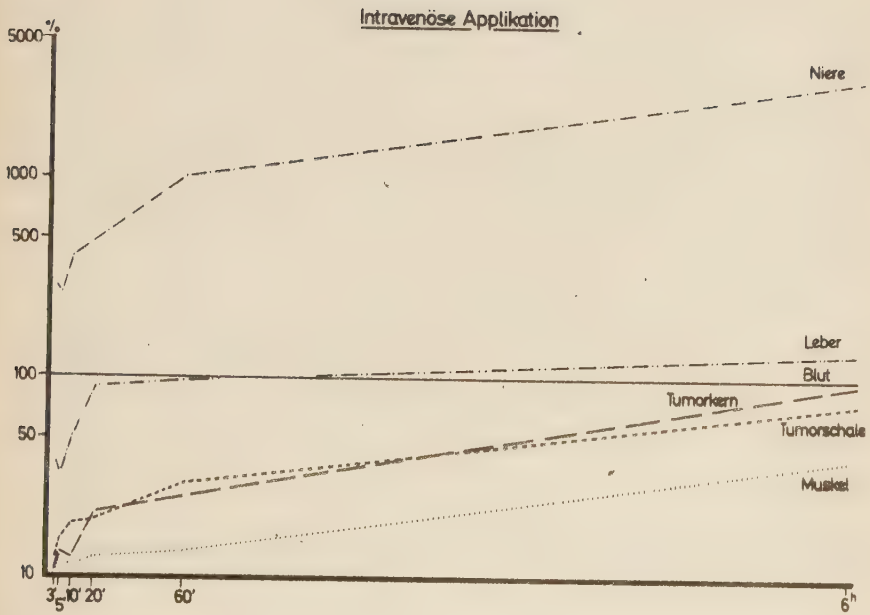


Abb. 2. Anreicherungskinetik bei intravenöser Applikation, halblogarithmische Darstellung

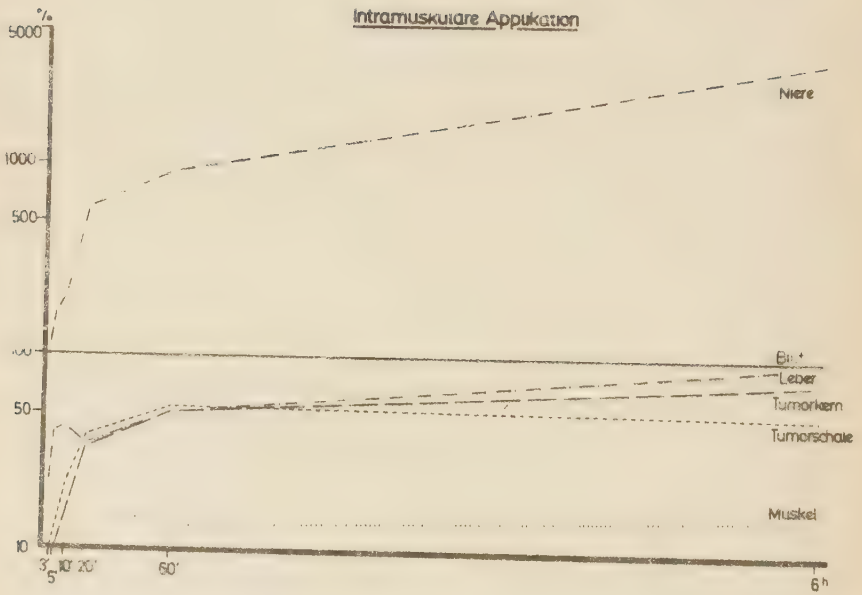


Abb. 3. Anreicherungs-kinetik bei intramuskulärer Applikation, halb-logarithmische Darstellung.

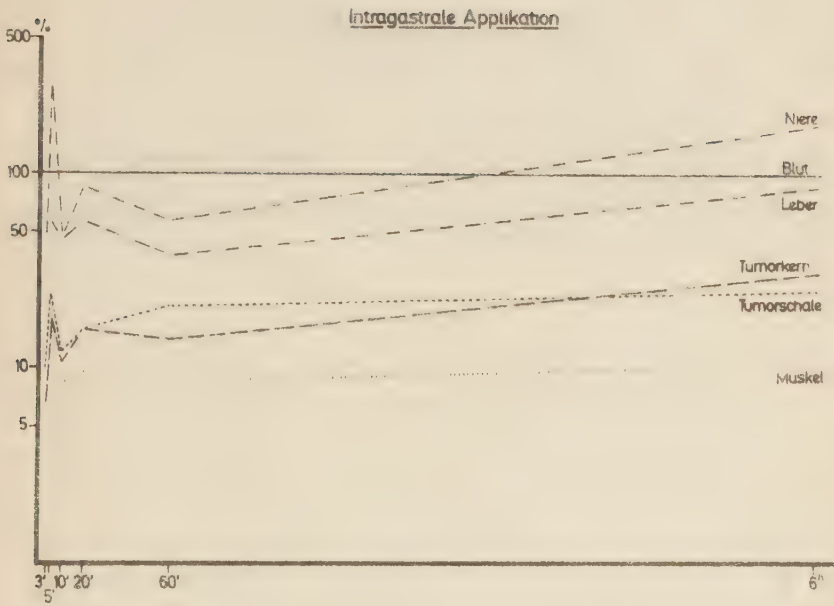


Abb. 4. Anreicherungs-kinetik bei intragastraler Applikation, halb-logarithmische Darstellung. Geringe Aufnahme des Tracers aus dem Magen führt zu nur niedriger absoluter Aktivität im Blut und den gemessenen Organen, daher eingeschränkte Aussagekraft.

Relative Anreicherung in der Tumorschale

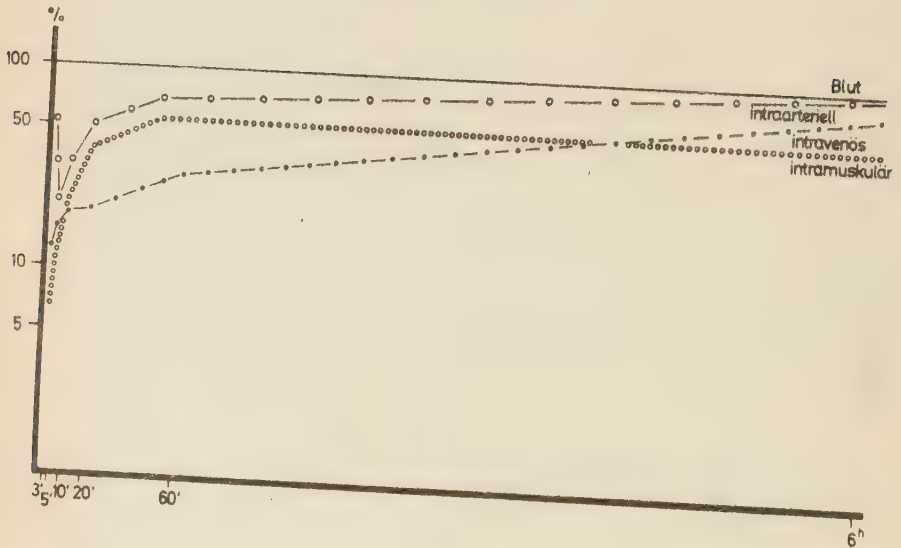


Abb. 5. Relative Aktivitätsanreicherung in der Tumorschale bei unterschiedlicher parenteraler Tracerapplikation.

Relative Anreicherung im Tumorkern

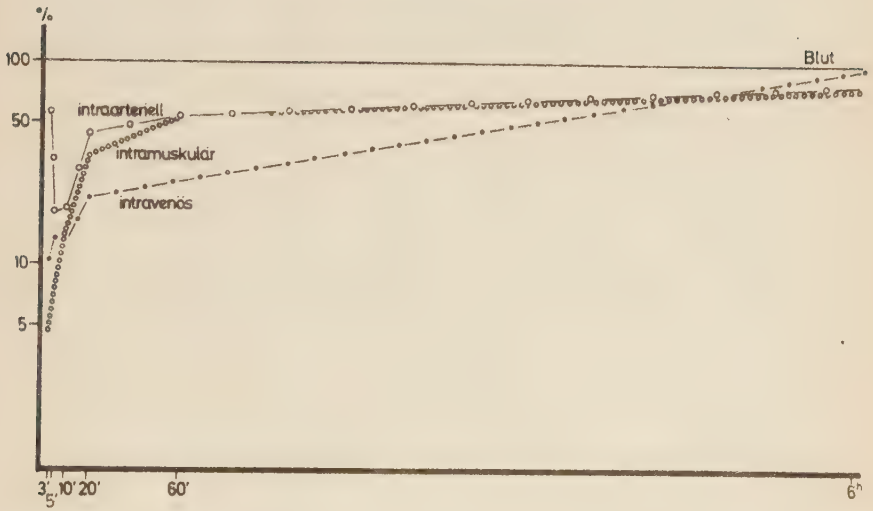


Abb. 6. Relative Aktivitätsanreicherung im Tumorkern bei unterschiedlicher parenteraler Tracerapplikation.

Tabelle I

Auffällige (+) oder signifikante (++) Differenzen zwischen den Zeitpunkten. Dem späteren Zeitpunkt entspricht in allen Fällen auch der höhere Wert. Die angegebenen Zahlen sind Minuten nach Injektion.

L= Leber, N= Niere, M= Muskel; TS= Tumorschale, TK= Tumorkern

	3-20	3-60	3-360	5-20	5-60	5-360	10-360	20-360
i.a. L			+					+
N		++	++		++	++		+
M								
TS					+	++		+
TK						++		+
i.v. L		+	++			+		+
N			++		+	++	++	
M								
TS		+	++			+	+	
TK		+	++			++	+	
i.m. L		+	++			+	+	+
N	+	++	++			++	++	
M	+	++	++		+	++		
TS	+	++	++		+	++		
TK	+	++	++	+	++	++		

Tabelle II

Auffällige (+) oder signifikante (++) Differenzen zwischen den Applikationsarten bei einigen Organen.

<u>Zeitpunkt</u>	<u>Applikation</u>	<u>Organ</u>
3 min.	i.m. < i.a.	Schale ++
		Kern ++
5 min.	i.v. < i.m.	Niere +
		Muskel +
	i.m. < i.a.	Muskel ++
60 min.	i.v. < i.a.	Schale ++
		Kern +
	i.v. < i.m.	Schale +
		Kern +

IV. DISKUSSION

Voraussetzung der szintigraphischen Darstellung eines Tumors ist eine höhere Aktivitätskonzentration im Tumor gegenüber seiner Umgebung. Die absolute Aktivitätsanreicherung im Tumor ist für dessen Abbildung weniger entscheidend als die relative Anreicherung im Tumor gegenüber seiner Nachbarschaft und gegenüber der Blutaktivität. Aus dieser Überlegung heraus wurden die Aktivitätsmessungen im Tumor und den übrigen untersuchten Organen auf die Blutaktivität bezogen und so die relative Aktivitätsanreicherung in Tumor, Niere, Leber und Muskel bestimmt. Die Aktivitätsmessungen der Organe wurden für das einzelne Tier in sehr kurzen Zeitabständen im automatischen Probenwechsler durchgeführt; der Zeitpunkt der Messungen nach Abtöten des Tieres ändert die relative Aktivitätskonzentration nicht, da in allen Organen in gleicher Weise der Zerfall mit einer physikalischen Halbwertszeit von 6 Stunden beim verwendeten ^{99m}Tc abläuft.

Die nachgewiesene relative Anreicherung von ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplex im Tumor wird durch zwei Faktoren (2) beeinflusst:

1. Echte Anreicherung der Substanz in den untersuchten Geweben.
2. Relative Anreicherung der Substanz durch Abnahme der Blutaktivität infolge Akkumulation und Ausscheidung durch die Niere.

Etwa 75 % des ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplexes werden mit einer biologischen Halbwertszeit von 2,5 h durch die Niere ausgeschieden; der Rest wird überwiegend in den distalen Nierentubuli gespeichert, so daß eine effektive Halbwertszeit von 5,7 h resultiert (21). Der absolute Aktivitätsspiegel im Blut fällt daher rasch ab; Leber und Tumor geben dagegen die aufgenommene Substanz nur protrahiert ab. Da die ermittelten Organaktivitäten auf die Blutaktivität bezogen sind, zeigen Leber und Tumor auch dann noch einen relativen Anstieg ihrer Aktivität, wenn das Maximum der absoluten Anreicherung schon überschritten ist, und der Abtransport des Tracers aus dem Blut größer ist als aus den betreffenden Organen. Im Gegensatz zu einer solchen Aktivitätsretention in Tumor und Leber verläuft die Aktivitätskurve des Muskels weitgehend parallel zur Blutaktivität oder zeigt einen nur geringen Anstieg. Offenbar nimmt die Aktivität im Muskel fast ebenso schnell ab wie die Blutaktivität.

Die relativ hohe Anreicherung im Tumor beruht wahrscheinlich nicht auf aktiven Stoffwechselvorgängen, sondern ist Ausdruck einer unspezifischen Störung der Blut-Gewebsschranke infolge interstitieller und zellulärer Permeabilitätsstörungen im Tumor und der unmittelbaren Tumorumgebung (12, 15). Dieses unspezifische Phänomen konnte in ähnlicher

Weise in klinischen Untersuchungen bei Entzündungen (11,12) und Durchblutungsstörungen nachgewiesen werden. Auch konnte bei orientierenden tierexperimentellen Untersuchungen in der Terpentins-induzierten, abakteriellen Entzündung des Rattenmuskels eine relative Aktivitätsanreicherung in vergleichbarer Höhe wie im Rattentumor gefunden werden (14).

Die erwarteten Unterschiede in der Aktivitätsverteilung in Tumorschale und Tumorkern ließen sich nicht nachweisen. Wahrscheinlich kommt es infolge Blutaustrittes im nekrotischen Tumorkern, der sich bei angiographischen Untersuchungen als vaskuläre Seenbildung darstellen läßt (4), zu einer wenig mobilen Aktivitätsanreicherung, die nur langsam wieder abgegeben werden kann. In der gut vaskularisierten Tumorschale liegen dagegen die oben erwähnten zellulären und interstitiellen Permeabilitätsstörungen vor. Gut durchblutete Tumorschale und nekrotischer Kern scheinen also unter ungleichen Bedingungen ein ähnliches Resultat in der Speicherung zu ergeben. Die schlechte Trennmöglichkeit von Schale und Kern bei makroskopischer Präparation verwischt zudem feinere Unterschiede.

Bei intragastraler Tracerapplikation als Modell einer peroralen Anwendung ergaben sich in der ersten Stunde nach Tracergabe Impulswerte in sehr niedrigem, nicht oder nur bedingt auswertbarem Bereich. Offenbar wird der ^{99m}Tc -EisnII-

Askorbinsäure-Komplex im Magen und Dünndarm nur sehr verzögert aufgenommen. Die graphische Darstellung der relativen Organaktivitäten (Abb. 4) gibt insofern einen falschen Eindruck, als die zugrunde liegenden Blutaktivitäten absolut sehr niedrig sind.

Die Unterschiede zwischen den übrigen parenteralen Applikationsarten waren geringer als erwartet. Im Zeitraum unmittelbar nach der Tracerapplikation erzielte die intraarterielle Gabe direkt in den arteriellen Zufluß des Tumors zwar hohe Werte im Tumor (Abb. 1), der Mittelwert lag aber noch immer niedriger als das Blutniveau. Der Tumor kann somit die ihm angebotene hohe Aktivitätsmenge nur zu einem kleinen Teil retinieren. Außerdem war gerade zu diesem Messzeitpunkt die Streuung außergewöhnlich hoch, so daß diesem Wert nur bedingte Aussagekraft zukommt. Fünf Minuten post inj. hatte sich das Aktivitätsniveau im Tumor bei intraarterieller Gabe dem der intravenösen und intramuskulären Applikation schon weitgehend angenähert. Im Messbereich zwischen 20 min. und 60 min. p.i. ergaben sich signifikant bessere Anreicherungen im Tumor bei intraarterieller und auch intramuskulärer Injektion. Wir haben bisher keine Erklärung dafür, warum die intramuskuläre Applikation gegenüber der intravenösen Gabe eine höhere Aktivitätsanreicherung im Tumor ergab.

Bei früheren tierexperimentellen Untersuchungen (2, 9) mit intravenöser Tracerapplikation überschritt die Aktivität im Tumor T 58 nach etwa zwei Stunden das Blutniveau. Bei unseren Untersuchungen wurde eine solch hohe relative Aktivitätsanreicherung im Tumor nicht erreicht. Im Unterschied zu den hier vorgelegten Untersuchungen wurden die früheren Tierexperimente am nicht narkotisierten und nicht laparotomierten Tier durchgeführt. Es ist anzunehmen, daß die allgemeine Kreislaufsituation in Narkose und während des operativen Eingriffes Einfluß auf die Tumordurchblutung und damit auf die Aktivitätsanreicherung hat.

Die vorliegenden tierexperimentellen Untersuchungen erbringen für die klinische Tumorszintigraphie mit ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplex folgende Ergebnisse: Eine zur szintigraphischen Tumordarstellung geeignete Aktivitätsanreicherung ergibt sich nur bei parenteraler Tracerapplikation. Bei intraarterieller, intravenöser und intramuskulärer Applikation reichert sich ausreichend Aktivität im Tumor an. Wie bereits frühere experimentelle und klinische Untersuchungen ergaben (9,11,12), eignet sich ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplex wegen der Nachbarschaft anderer aktivitätsspeichernder Organe nicht zur Tumordarstellung im Abdominalraum.

Die intraarterielle Tracerapplikation läßt wegen der nach kurzem Anstieg zunächst wieder abfallenden relativen Aktivität im Tumor für die konventionelle Szintigraphie, die längere

Zeit zur Schreibung des Szintigrammes benötigt, keine besseren Ergebnisse im Vergleich zur intravenösen Applikation erwarten. Dagegen könnten die Vorteile der direkten Applikation in die den Tumor versorgende Arterie Vorteile für die Kameraszintigraphie erbringen. Direkte, fortlaufende Aktivitätsmessungen über dem Tumor (12) sollten zunächst durchgeführt werden, um die Anreicherungskinetik von ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplex nach intraarterieller Tracerapplikation auch bei Humantumoren zu bestimmen.

V. ZUSAMMENFASSUNG

Die Anreicherungskinetik von ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplex im Myelosarkom T 58 der Ratte, sowie in Niere, Leber und Skelettmuskel wurde nach intraarterieller, intravenöser intramuskulärer und intragastraler Tracerapplikation bestimmt. Tumorschale und Tumorkern ergaben keine Unterschiede in der relativen Aktivitätsanreicherung, obwohl der Aktivitätsretention in der gut vaskularisierten Tumorschale und im nekrotischen Tumorkern wahrscheinlich unterschiedliche Mechanismen zugrunde liegen.

Die intragastrale Tracerapplikation ergab keine ausreichende absolute Aktivitätsanreicherung im Tumor, Blut und den anderen untersuchten Organen. Alle drei parenteralen Applikationsarten erbrachten verwertbare, jedoch unterschiedliche Anreicherungen im Tumor. Die intraarterielle Applikation von ^{99m}Tc -EisenII-Ascorbinsäure-Komplex erbringt möglicherweise unter Verwendung der Kameraszintigraphie verbesserte Abbildungsbedingungen.

VI. LITERATUR

1. SCHLINGER, T.T., R.L. WIRKOWSKI, J.E. WHITLEY, C.D. MAYNARD: The demonstration of extracranial neoplasms with ^{99m}Tc -pertechnetat. Preliminary notices. J. Nucl. Med. 6 (1965) 687
2. BROD, K.H., K.J. SCHMIDT, L.V. HABIGHORST, R. WOLF: Die Eignung ^{99m}Tc -haltiger Komplexverbindungen zwischen Ascorbinsäure und Schwermetallionen für die Szintigraphie. Radioisotope in Pharmakokinetik und klinischer Biochemie. Nucl. Med. Suppl. 8 (1970) 363 - 366
3. DIETHELM, L., W. FISCHER, L.V. HABIGHORST, C.M. SCHWEI-
GERT: 1968. Angiographische und szintigraphische Untersuchungen an einigen seltenen Knochentumoren. Radiologe 9 (1969) 311 - 317
4. REUTSCH, N., H.J. KLAAS: Dissertation in Vorbereitung
5. FEINE, U., K. ZUM WINKEL: Nuklearmedizin. Szintigraphische Diagnostik. Stuttgart 1969
6. JERNARD, J., F. MUNDINGER: Biochemische Untersuchungen über Timorspeicherung der zur Hirntumordiagnostik verwendeten Radioisotope. Acta Radiologica Vol 5 (1966)

7. GUERIN, M.: Tumeurs spontanées des animaux de laboratoire
Paris 1954
8. HAAS, J.F., H. DIETZ, K.J. SCHMIDT, F. DOERR, K.H. BROD,
R. WOLF: Comparaison des résultats de la scintigraphie
cérébrotumorale avec trois substances différentes: per-
technétate marqué avec ^{99m}Tc , complexe ^{99m}Tc Fe (II) et
macroagrégat d'albumine marqué avec ^{131}I . Vortrag Symposium
der I.A.E.C. Salzburg 1968.
9. HABIGHORST, L.V., R. WOLF, K.J. SCHMIDT, K. H. BROD,
W. BUCHWALD: Erste Ergebnisse in der Tumorszintigraphie
mit ^{99m}Tc -EisenII-Komplex. Fortschr. Röntgenstr. 109
(1968) 488-494
10. HABIGHORST, L.V., L. DIETHELM, A.C. AMOROSO: Tierexperi-
mentelle Untersuchungen zur präoperativen Tumorbestrahlung.
Strahlentherapie 135/3 (1968) 257 - 268
11. HABIGHORST, L.V., K.J. SCHMIDT, J. KUTZNER, K.H. BROD,
R. WOLF: Szintigraphie von Skeletterkrankungen mit ^{99m}Tc -
technetium-EisenII-Komplex - erste Ergebnisse. Nucl. Med. 8
(1969) 211 - 219
12. HABIGHORST, L.V., R. WOLF, K.J. SCHMIDT, K.H. BROD, W.
BUCHWALD: Tumorszintigraphie mit ^{99m}Tc -EisenII-Komplex.
Radioisotope in Pharmakokinetik und klinischer Biologie.
Nucl. Med. Suppl 8 (1970) 345 - 348

13. HABIGHORST, L.V., K.J. SCHMIDT, K.H. BROD, R. WOLF:
Szintigraphie von Skeletterkrankungen mit ^{99m}Technetium-
EisenII-Komplex. in R. Glauner: Angiologie und Szinti-
graphie bei Knochen- und Gelenkerkrankungen. Stuttgart
(1971) 128 - 132
14. HABIGHORST, L.V.: persönliche Mitteilung
15. MUNDINGER, F., H. GERHARD: Untersuchungen über die Ver-
teilung der zur Hirntumordiagnostik verwendeten Radio-
isotope in der Blutbahn, in experimentellen Tumoren und
menschlichen Hirngeschwülsten. Acta neurochir. 11 (1963)
398 - 415
16. KOLLER, S.: Neue graphische Tafeln zur Beurteilung statis-
tischer Zahlen. Darmstadt (1969) 25,89
17. OBERLING, C., M. GUÉRIN, P. GUÉRIN: Bull. assoc. franc.
étude cancer 28 (1939) 214 (zitiert nach 10)
18. SACHS, L.: Statistische Auswertungsmethoden. Berlin 2. Aufl.
(1969) 527 - 539
19. SACK, H., E. SCHERER, J. HALAMA, M.W. STRÖTGES: Erste Er-
gebnisse der Tumor- und Metastasendiagnostik mit radioak-
tiven Isotopen. Dtsch. med. Wsch. 92 (1967) 93 - 98

20. SCHMIDT, K.J., J. KUTZNER, K.H. BROD, R. WOLF, L.V. HABIGHORST: Vergleichende szintigraphische Untersuchungen mit ^{87m}Sr und ^{99m}Tc -FeII-Komplex bei Skelettumoren. Ergebnisse der klinischen Nuklearmedizin. Nucl. Med. Suppl 9 (1971) 136 - 139.
21. SCHMIDT, K.J., K.H. BROD, R. WOLF, J.P. HAAS: Grundlagen und Technik der Nierenszintigraphie mit einem ^{99m}Tc -EisenII-Komplex. Fortschr. Röntgenstr. 107 (1967) 713 - 727
22. SCHMIDT, K.J., R. WOLF, H. DIETZ, J.P. HAAS, K.H. BROD: Erste Erfahrungen in der Hirntumordarstellung mit dem ^{99m}Tc -EisenII-Komplex. 49. Dtsch. Röntgenkongreß Hamburg 1968
23. STAPLETON, J.E., R. W. ODELL, M.R. McKAMEY: Technetium Iron Ascorbic Acid Complex, a good brain scanning agent. Amer. J. Roentgenol. 101 (1967) 152 -156
24. STRÖTGES, M.W.: Nuklearmedizinische Tumordiagnostik. Ergebnisse der klinischen Nuklearmedizin. Nucl. Med. Suppl. 9 (1971) 21 - 34
25. WOLF, R., J. FISCHER: Tumorszintigraphie mit radioaktiven Quecksilberverbindungen ($^{197}\text{HgCl}_2$ und ^{197}Hg -Neohydrin). Nucl. Med. (Stuttgart) Suppl. 3 (1965) 223 - 228

Lebenslauf

Am 14. Juni 1946 wurde ich in Darmstadt-Arheilgen als Sohn der Eheleute Josef Hill und Caecilie geb. Jung geboren. Ich gehöre der römisch katholischen Kirche an.

1947 verlegten meine Eltern ihren Wohnsitz nach Daxweiler/ Kreis Kreuznach, wo sie auch heute noch einen Bauernhof bewirtschaften. Meine Schwester wurde 1957 geboren.

Von 1952 bis 1956 besuchte ich die kath. Volksschule Daxweiler. 1956 wechselte ich auf das staatliche humanistische Gymnasium in Bad Kreuznach, wo ich auch nach neunjährigem Schulbesuch das Abitur erwarb. Von April 1965 bis April 1967 leistete ich meinen Wehrdienst im Sanitätskorps der Luftwaffe in verschiedenen Standorten ab. Nach meinem Ausscheiden im Rang eines Leutnant d. R. begann ich das Studium der Humanmedizin an der Johannes Gutenberg Universität in Mainz.

Am 25. März 1968 legte ich die naturwissenschaftliche Vorprüfung ab und am 9. Oktober 1969 bestand ich die ärztliche Vorprüfung. Im Sommer 1972 werde ich das Staatsexamen beginnen.

Seit August 1970 bin ich mit dem Bankkaufmann Gisela Höning verheiratet. Ich wohne in Mainz-Weisenau, Radweg 29.

